

〈特集：カイコによるタンパク質生産と産業化〉

遺伝子組換えカイコ作製技術、高機能絹繊維の開発

瀬筒 秀樹

Development of transgenic silkworms and high-performance silks

Hideki Sezutsu

Summary Silk from the cocoon of the silkworm *Bombyx mori* has been used in textile production for millennia. Recently, an attempt has been made to establish new sericulture and silk industry using genetically modified silkworm and new silk. To generate transgenic silkworm, a method of DNA microinjection to the eggs was developed using a transposon as a vector. To improve and add high value to silk, transgenic silks have been developed by changing silk fiber colors and their chemical/physical properties. For example, fluorescent silks were developed by the fusion of green, red and orange fluorescent proteins. Also the finest silk in the world, a silk with high cell-adhesive ability and so on have been made. To test properties and the utility of transgenic silks for clothing or medical materials, samples were produced including textile fabrics, interior accessories, basic materials to construct artificial blood vessels, etc.

Key words: Transgenic silkworm, Genetically modified silkworm, Transgenic silk, Fluorescent silk, High-performance silk

I. はじめに

日本の繭生産量はピーク時には約40万トン(1930年)、養蚕農家の戸数は221万戸(1929年)もあり、当時の日本経済を支えていた。しかし2012年には、それぞれわずか202トン、571戸と縮小しており、従事者の高齢化や国際競争力不足等により、日本の蚕糸・絹業は深刻な存亡の危機にある。2014年4月には、群馬県の富岡製

糸場と絹産業遺産群が世界文化遺産への登録を勧告されたという嬉しいニュースがあり、我が国の蚕糸・絹業に関する伝統文化の一部は世界遺産として残る見込みであるが、一方では技術の継承や産業としての存続は危ぶまれている。

蚕糸・絹業の衰退の主な原因の一つは、繭の買い取り価格および絹の国内価格が低いことである。産業として成り立たせるには、海外で生産される低価格の繭・絹と差別化し、海外では

独立行政法人農業生物資源研究所 遺伝子組換え研究センター 遺伝子組換えカイコ研究開発ユニット
〒305-8634 茨城県つくば市大わし1-2

Genetically Modified Organism Research Center
National Institute of Agrobiological Sciences
1-2 Owashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8634, Japan

真似できない高価格な繭・絹・絹製品を開発し、生産販売・輸出する必要がある。近年、日本を中心に遺伝子組換えカイコを作る技術が確立され、これまでに無い性質を持つ絹繊維を遺伝子組換え技術で作ることが可能になってきた。現在、従来の蚕糸・絹業の技術と新しい遺伝子組換え技術を活用して、高付加価値な高機能絹繊維および絹製品を開発することにより、従来の蚕糸・絹業を新産業（新蚕業）に転換して存続・発展させる取り組みが、産官学連携によって進められている。

本稿では、遺伝子組換えカイコおよび遺伝子組換えシルクの作り方と、遺伝子組換え技術を用いた様々な高機能絹繊維の開発や、それらを用いた製品試作等の実用化に向けた取り組みの現状について紹介する。

II. 遺伝子組換えカイコの作製法

遺伝子組換えカイコは、トランスジェニックカイコやGMカイコとも呼ばれている。遺伝子

組換えとは、ある生物に、もともとはその生物が持っていない外来遺伝子を組み込むことである（一般的には「遺伝子組み換え」と書かれることが多いが、ここでは法律・行政・学術上の用語である「遺伝子組換え」を用いる）。遺伝子組換えのメリットは、その生物の性質や作物の品質等を、交配と選抜の繰り返しによる従来の品種改良よりも、短期間で大幅に改良できること等がある。カイコは1頭のメスが約500個の卵を産むので、数万～数百万の個体を得て飼育することも難しくない。デメリットとしては、遺伝子組換え生物の人体への安全性や環境・生物多様性への影響の有無を証明することが難しく、社会受容に問題があることや、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による多様性の確保に関する法律」（通称カルタヘナ法）の規制がかかるため、大量飼育可能な施設の確保が困難であること等があげられる。カイコは完全に家畜化され、幼虫は移動性が低く、成虫は飛べなくなっており、人の管理なしに生きていくことができないため、野外に逃げた場合の生物多様

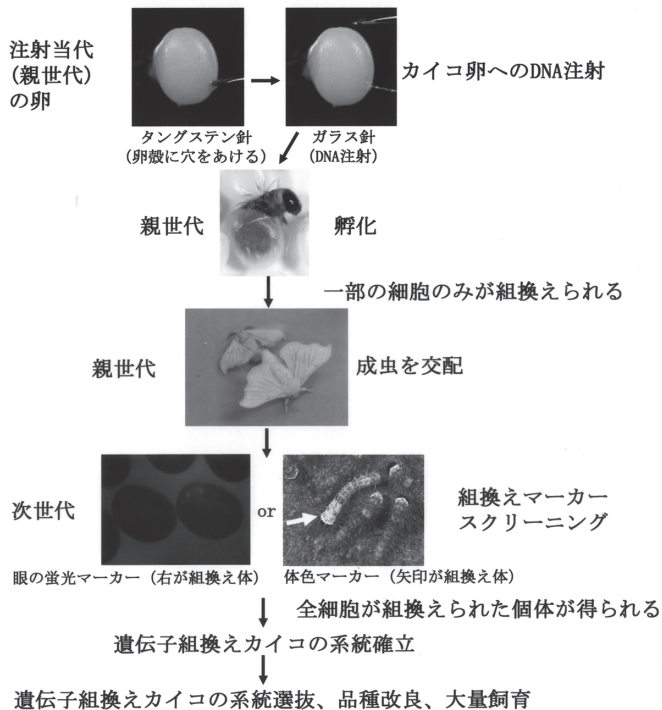


図1 遺伝子組換えカイコの作製方法

性への影響は低いと考えられており、遺伝子組換えカイコの飼育に関する諸問題は少ないと考えられている。

カイコの遺伝子組換え技術は、(独) 農業生物資源研究所の田村らが中心となって2000年に世界で初めて発表され¹⁾、近年急速に技術が発展し、遺伝子機能解析や有用物質生産への応用が進みつつある²⁾。遺伝子組換えカイコの作り方は、産卵後4～8時間以内の、細胞膜が形成される前のカイコの卵に、外来遺伝子のDNA溶液を注射することによって行う(図1)。他の動物の卵細胞にはガラスの注射針でDNA溶液を注射できるが、カイコは卵の殻が厚いため、ガラスの注射針では折れてしまうことが、カイコの遺伝子組換えが難しい点の一つであった。そのため、タングステン等の金属の針で一度穴を開けてから、その小さな穴にガラスの注射針を入れてDNA溶液を注射する方法が開発された。卵の直径は約1ミリと小さく、金属針の穴も小さいため、当初は大変難しい技術であったが、最近では注射装置の改良が進み、比較的容易になった。

注射した当代(親世代)では、体の一部の細胞のみで外来遺伝子がゲノム(生物の細胞が持っている全遺伝情報を含むDNAの1セット)に組み込まれる。生殖細胞に外来遺伝子が組み込まれれば、その生殖細胞由来の精子や卵子から得られた次世代において、全細胞に組み込まれた個体、つまり遺伝子組換えカイコが得られる。外来遺伝子は、染色体(ゲノムが線状DNAとして分割されて折り畳まれたもの)に組み込まれるため、次世代以降にも遺伝の法則に従って伝わる。導入した遺伝子は染色体の中で安定であり、外来遺伝子が欠失したり、発現が無くなるサイレンシングといわれる現象は殆どみられない。現在では約400個の卵にDNAを注射すれば、約100頭が成虫になり、そのうち10頭程度の子孫の一部に遺伝子組換えカイコが見つかる。それらのうち、外来遺伝子の発現が高い個体を系統として選抜し、実用品種等と交配してカイコを頑健にするとともに、繰糸しやすい繭を作るように品種改良を進め、大量飼育を行っている。

遺伝子組換え体を判別するためには、可視的な遺伝子組換えマーカー(組換えマーカー)が用いられることが多い。蛍光タンパク質を眼ま

たは全身で発現させると判別しやすいため、よく用いられているが、判別に高価な蛍光顕微鏡が必要である等の欠点もある。そのため、我々は肉眼で判別できる体色マーカーの開発を進め、キヌレニン酸化酵素遺伝子(KMO)を用いて、第一白卵突然変異wIをもつ実験用系統の幼虫体色が茶色になる体色マーカーを開発し³⁾、さらに、黒卵黒眼の実用品種や他の昆虫でも利用可能と思われるアリアルアルキルアミンNアセチルトランスフェラーゼ遺伝子(aaNAT)を用いて、幼虫体色の黒色部分が薄くなる優性マーカーを開発した⁴⁾。また、現在では、次に述べるようにカイコでも遺伝子ノックアウト技術が普及してきたため、体色や模様等に関する様々な突然変異遺伝子を利用することによって、様々な組換えマーカーの開発も可能となっている。

現在、新しい遺伝子組換え技術の「ゲノム編集」もしくは「遺伝子ターゲティング」と呼ばれる技術が特に注目されている。これまでのトランスポゾンを用いた遺伝子組換え技術は、内在性の遺伝子はそのままで、外来遺伝子をゲノムの他の領域に挿入する技術であったが、この技術では、特定の遺伝子や遺伝子発現調節領域等を自在に破壊もしくは置換することが可能になる。具体的には、人工的にデザインできるTALEヌクレアーゼ(TALEN)やCRISPR/Cas9系等で任意の標的DNA配列を切断することにより、特定遺伝子を破壊する遺伝子ノックアウトや、相同組換えを利用して遺伝子を挿入または置換する遺伝子ノックインを行うことが可能になる。2010年前後から技術が急速に進展し、カイコでも手法が確立されつつあり⁵⁾、今後の応用が大いに期待されている。

遺伝子組換えカイコの作製だけでなく保存技術も重要である。遺伝子組換えカイコの系統数は年々増え続けており、有用物質生産用カイコの安定供給やバンク化のためにも、系統保存をどう行うかが問題となりつつある。カイコの卵は1年間保存できるが、それ以上の長期保存のためには、卵巣または精子凍結保存および卵巣移植や人工授精による復帰が有効と考えられている。容易な技術とは言えず、習熟が必要であるが、方法が改善されたことにより、成功率は近年向上しつつある⁶⁾。

Ⅲ. 高機能絹繊維の作製法

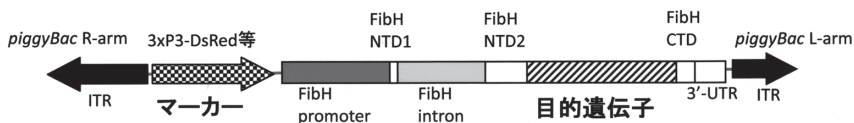
遺伝子組換えによって絹糸の性質を変えて高機能絹繊維（遺伝子組換えシルクまたは遺伝子組換えフィブロイン）を作製するための外来遺伝子のベクター（運び屋）の構造を図2に示す。昆虫での遺伝子組換えは、ベクターとしてトランスポゾン（ゲノムの中を転移できる因子）を用いるのが一般的である。カイコの遺伝子組換えが難しかった最大の理由は、カイコで使えるトランスポゾンが長い間見つからなかったことであったが、チョウ目のイラクサギンウワバの培養細胞から *piggyBac* というトランスポゾンが発見され、カイコでも利用できることがわかり、遺伝子組換えの成功に至った¹⁾。遺伝子組換えの際のベクターとしての利用のためには、トランスポゾンの逆方向末端反復配列（ITR）の間に外来遺伝子やマーカー遺伝子を組み込み、転移酵素を供給するヘルパープラスミド（図2C）と一緒に、それらのDNAを前述のように卵（初期胚）に注射する。トランスポゾンベクターは、転移酵素によってITRが認識されて切り出され、ゲノムに挿入される。

カイコの1世代は約50日であり、卵の期間が約10日で、孵化してから20~25日後には約5gの幼虫となり、1頭あたり重さ0.3~0.5g、長さ約

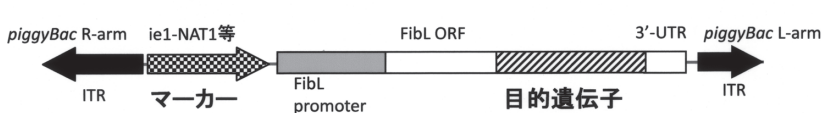
1,200 mもの繭糸を吐いて繭を作る。繭糸はほとんどタンパク質でできており、絹糸腺という筒状の器官（5齢幼虫の体重の4割を占める）で合成され、絹糸腺の内腔に分泌されて液状タンパク質として貯蔵され、吐糸口から出される際に物理的に繊維化される。繭糸の75%は絹繊維の本体であるフィブロインで、後部絹糸腺細胞で合成・分泌され、25%は接着の役割を持つセリシんで、中部絹糸腺細胞で合成・分泌される。フィブロインは、分子量が約350 kDaのフィブロインH鎖と、約28 kDaのフィブロインL鎖がジスフィルド結合し、さらに約25 kDaのP25（別名フィプロヘキサマリン）という糖タンパク質と疎水性相互作用で結合して、複合タンパク質として絹糸腺内腔に分泌される。

絹繊維の性質を変えるには、性質を変える機能をもつ目的遺伝子を、フィブロインH鎖やフィブロインL鎖遺伝子に組み込んだベクターを作製し（図2A、B）、カイコに導入する方法が、現在は有効と考えられている。フィブロインH鎖遺伝子は、遺伝子発現に必要なプロモーター領域とイントロン、分泌に必要なN末およびL鎖との結合に必要なC末領域に挟まれた巨大な反復配列領域からなるが、フィブロインH鎖ベクターは、反復配列領域を目的遺伝子に置き換えたものである。フィブロインL鎖ベクターは、

A. フィブロインH鎖(FibH)ベクター



B. フィブロインL鎖(FibL)ベクター



C. ヘルパープラスミド



ITR: Inverted Terminal Repeat
 NTD: N-Terminal Domain
 CTD: C-Terminal Domain
 UTR: Untranslated Region

図2 遺伝子組換えシルク作製のためのベクターの構造

フィブロインL鎖の末端に目的遺伝子を付加したものが利用されている。

遺伝子組換えフィブロインH鎖またはL鎖のタンパク質は、内在性のフィブロインタンパク質と複合体を形成して、絹糸腺内腔に分泌されて吐糸され、絹繊維に新しい機能を付与することができる。しかし現状の技術では、遺伝子組換えフィブロインは、内在性のフィブロインに対して数%~10%程度の量で含まれる程度であり、劇的に性質を変えるのは難しい。新しいゲノム編集技術を用いて、内在性のフィブロイン遺伝子をノックアウトもしくはノックインすれば、組換えフィブロイン100%の絹繊維を作り、劇的に性質を変えることも、理論的には実現可能となっている。しかしながら、液状フィブロインが繊維化（固体化）するまでには、複雑な立体構造の変化のプロセスを要し、それは化学的性質つまりアミノ酸配列に大きく影響されるため、組換えフィブロインの性質が在来のフィブロインと大きく異なる場合には、分泌や繊維化プロセスに障害が生じ、吐糸できない可能性が示唆されている。繊維化のメカニズムの解明と制御技術の開発は、絹繊維におけるアミノ酸配列と機能の関係の解明、絹糸腺でのフィブロインの大量発現および分泌機構の解明等とともに、今後也非常に重要な課題である。

IV. 高機能絹繊維の開発

遺伝子組換えによる高機能絹繊維としては、蛍光色、色素、織度変化、強度、伸度、耐久性、細胞接着性、抗菌性、組織再生能力等を付与した絹繊維が考えられる。それらの性質を有すると期待される外来遺伝子配列を組み込んだ遺伝子組換えシルクの開発と、大量飼育システムの構築や製品試作等が現在進められている。

1) 蛍光シルク・カラーシルク

前述のフィブロインH鎖またはフィブロインL鎖のベクターに、オワンクラゲの緑色蛍光タンパク質GFP（2008年に下村教授がノーベル化学賞受賞）を改良したEGFP等の蛍光タンパク質が組み込まれた⁷⁾。蛍光タンパク質は、特定の波長の光で励起され、より長い波長の光を発する特徴があり、GFPは、青色光を当てると緑色の

蛍光を発する。蛍光を観察するには、青色LED等を照射し、青色を遮ることができる黄色フィルターを通して見るか、ブラックライトを当てるとよい。蛍光タンパク質は、マーカータンパク質として有用であり、絹繊維中に遺伝子組換えフィブロインが分泌されたかどうかを可視化できる。それにより、蛍光タンパク質の代わりに様々な外来タンパク質を組み込むことができることや、化学薬品処理や熱処理の後でも外来タンパク質の立体構造が維持されるかどうかの目安を得ることができる。つまり、遺伝子組換えによる絹糸の改変を検証するために有用である。

2004年までには既に、フィブロインL鎖およびフィブロインH鎖ベクターを用いて、蛍光色を発する繭（繭糸）を作る技術は確立されていた（図3A）。しかし、当時のカイコは実験系統であり、繭が小さく繰糸が難しいことと、蛍光タンパク質は熱に弱い等の問題があったため、繭から繰糸して得られる生糸で蛍光を発するものは得ることができなかった。そこでまず、繭

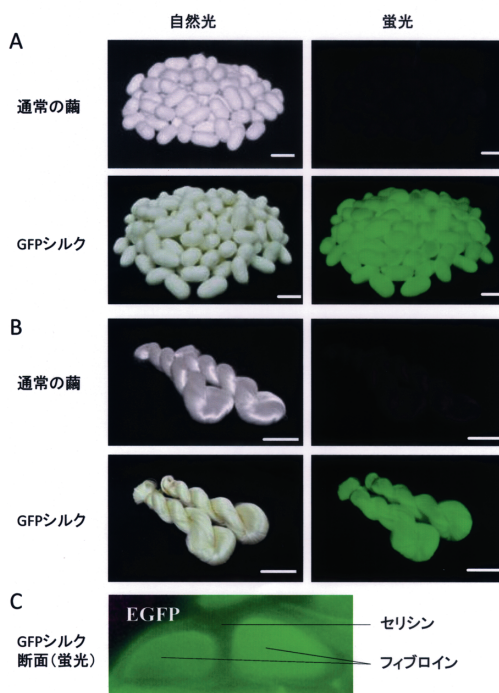


図3 緑色蛍光タンパク質を組み込んだGFPシルクの繭と生糸 (Iizuka et al. 2013改)

を大きくし、蛍光タンパク質の発現量や飼育成績に関する形質を改善するために、日本種および中国種系統の実用品種との交配・選抜を繰り返して、繭の品種改良を行った。それにより、実用品種と比べて遜色のない系統を育成することができ、育成された日本種と中国種の組換えカイコ系統の交配によってF1交雑種を作出した。このF1交雑種のカイコを用いることにより、数万頭以上の大量飼育を比較的容易に行うことができ、さらに繭の形質が大幅に改善され、蛍光タンパク質を繭糸中に多量に発現するように

なった。また、通常の繭の乾燥法、煮繭や繰糸の方法では、高温により蛍光タンパク質が熱変性して蛍光を失ってしまうため、繭を長時間低温で乾燥し、60℃以下の低温でアルカリ溶液を真空状態で浸潤させて煮繭・繰糸する技術を開発し、蛍光を失うことなく生糸を製造することが可能となった⁷⁾ (図3B)。蛍光タンパク質は、紫外線や熱に晒されなければ、シルクに封じ込められることによって長期間安定であり、数年間以上蛍光を発することができることもわかった。

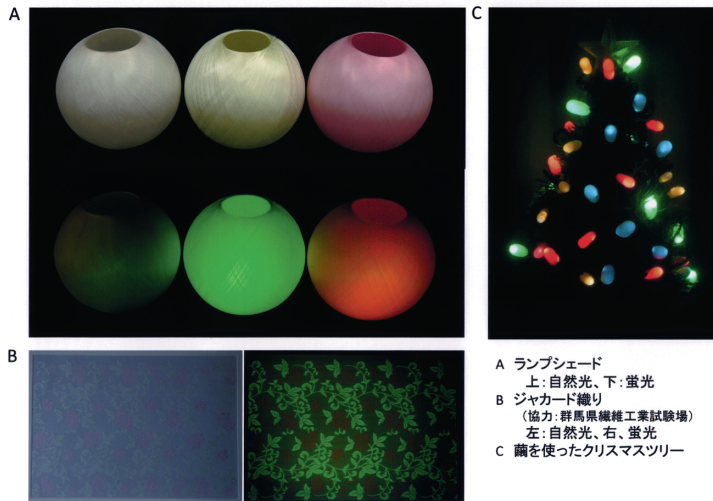
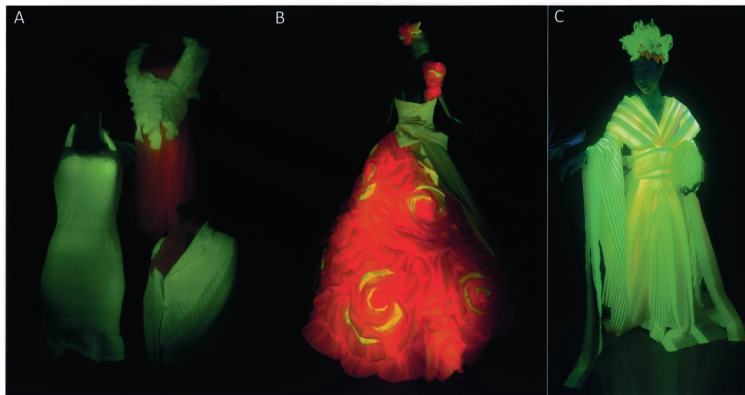


図4 蛍光シルクや蛍光繭を用いたインテリア製品の試作



A ニット製品 (協力: 群馬県繊維工業試験場 他)、B カラードレス (お色直し用ドレス) (協力: (株)ユミカツラインターナショナル)、C 舞台衣装 (協力: 浜縮緬工業共同組合、理化学研究所、(株)医学微生物学研究所、デザイン: 田中秀彦、モデル: 古田敦子)

図5 異業種連携により蛍光シルクで作られた試作品

緑色以外にも、赤色、オレンジ色等の蛍光タンパク質を組み込んだ遺伝子組換えシルクの開発に成功した。導入した遺伝子産物の性質を残したままで繭から生糸を繰糸する方法を適用し、各種の蛍光を発する絹繊維（蛍光シルク）が得られた^{7),8)}。これらの繭および生糸は、自然光つまり白色光の下でも、薄緑色、ピンク色、オレンジ色等を呈しており、カラーシルクとしても利用可能である。緑色蛍光タンパク質を組み込んだ緑色蛍光シルク（GFPシルク）の断面を見ると、フィブロイン層にGFPが一様に分布していることがわかる（図3C）。これまで、フィブロインそのものには色は付いておらず、染料を用いて無色のフィブロインを染色して利用してきたが、蛍光シルク・カラーシルクは、フィブロインに予め色が付いており、染料や化学薬品等を用いる染色工程が不要で環境負荷が少ない絹繊維と言える。

各種蛍光シルクに関して、各々F1交雑種を用いて2～4万頭レベルの大量飼育の試験が行われ、数kgの生糸が得られた。交雑育種により、繭重、繭層重、繭層歩合等の形質が従来の実用品種と同程度に高められることがわかった。さらに、繭から繰糸して織物にして製品化するまでの全工程の開発が試みられた。2008年には、蛍光シルクを用いたランプシェード、タピストリー（ジャカード織り）等のインテリア用品（図4）や、ワンピース、ジャケット等のニット製品（図5A）の試作が行われ、従来にない製品ができることがわかった。

次に、大量飼育法のマニュアル化、経糸（たていと）に蛍光シルクを用いる製織法、異業種連携による最終製品化までのプロセス作り等を行うため、2009年には、マニュアル化した大量飼育により生産した緑色および赤色蛍光シルクを活用して、撚糸会社、織物会社、有名デザイナーおよび人形メーカー等による異業種連携によって、ウェディングドレス、カラードレス（お色直し用ドレス）、内裏雛（雛人形）など高付加価値製品の試作が行われた。商品化に近い形での試作として、（株）ユミカツライナーナショナル、（株）齋栄織物、（株）東北撚糸等の異業種連携による共同製作を進め、ウェディングドレスとカラードレス（図5B）が作製された。ウェディングドレスには、緑色蛍光シル

クで織った張りとボリュームのある生地のみカド、カラードレスには、赤色蛍光シルクで織った薄手で透き通った生地のオーガンジー、経糸に緑色蛍光シルクと緯糸（よこいと）に赤色蛍光シルクを用いて織ったなめらかで光沢のある生地のサテンが使用された。サテンは、混織効果により黄緑色の蛍光色を発する布地となった。また、（株）吉浜人形および（有）石川との共同製作によって、紋様に蛍光絹糸を用いた内裏雛が作製された。2012年までには、さらに、様々な蛍光シルクが開発されるとともに、和装品の試作が行われ、精練処理でセリシンを除いた後も蛍光色・色素が失われない技術が確立された。浜縮緬工業共同組合等との共同製作によって、様々な色の蛍光シルクを精練して使った着物（舞台衣装）や小物等が試作されている（図5C）。

2) 超極細シルク

特殊なアミノ酸組成を持つペプチドを繰り返した配列をフィブロインに導入したところ、シルクが細くなることがわかり、（独）農業生物資源研究所で開発した世界で一番細い繭糸を作る品種（繊度1.7デニール）よりさらに繊度の細かい系統（繊度1.5デニール）が開発された。超極細シルクは高級服地の素材としての利用が期待されている。この系統のシルクを用いて作製した布地やショールは、光沢および弾力性が優れており、白度が高い。また、極性アミノ酸を多く含むため、化合物の結合能力が向上している。例えば、染色性が向上しており、染色後の発色も良いとされている。これまでに超極細シルクを用いた手描き友禅やシャツ等が試作されている。

3) スパイダーシルク

クモの糸は、地上最強の繊維と言われている。カイコのフィブロインとはアミノ酸配列が異なり、絹糸腺、吐糸器官、吐糸プロセスも異なっていて興味深い。シルクの基本的理解とカイコのシルクの力学物性を改変するために、クモ糸の遺伝子配列をフィブロインベクターに組み込み、カイコに導入したスパイダーシルクの開発が国内外で行われている。2007年には（独）農業生物資源研究所の小島らがオニグモ縦糸タン

パク質を導入した組換えシルクの高次構造解析を発表し⁹⁾、信州大学や米国等においてもスパイダーシルクの開発が行われており、力学物性の向上も確認されている。

4) 抗菌シルク、再生医療用シルク

組換えシルクを利用した抗菌シルクや再生医療材料等の開発も進められており、今後期待される分野である。抗菌タンパク質や抗菌ペプチド配列、リゾチム等を含む抗菌シルクの開発が進められている。また、細胞接着因子や成長因子等を融合した再生医療用シルクの開発や、それを利用した小口径人工血管等の開発が行われている。

細胞接着性向上シルクとして、フィブロネクチンやコラーゲン等の細胞接着因子のアミノ酸配列を導入した遺伝子組換えシルクが開発されている。この組換えシルクは細胞接着性に優れていることから、この繭糸を用いて1~5mmの口径の小口径人工血管用基材が(独)農業生物資源研究所および東京農工大学の朝倉らによって作製され(図6)、ラットやイヌへの移植実験が行われている。ラットでは血管再生つまりリモデリングが起こることがわかり、人工血管として優れた機能を有すると考えられている。その他、組織再生を促進する因子等の導入も試みられている。人工血管以外にも、フィルム、スポンジ等々の形態での再生医療素材としての利用も期待される。

5) 有用物質封入シルク

最初に有用物質を絹糸腺で発現させた例は、

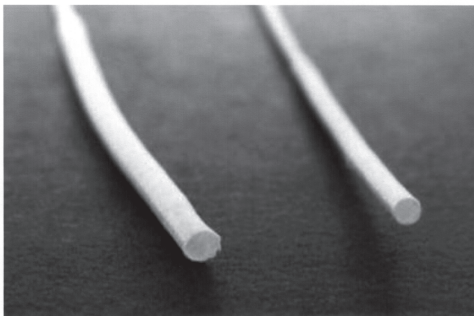


図6 シルクで作られた小口径人工血管

2003年に富田らにより、human type III procollagenの部分配列をフィブロインL鎖に融合させたものである¹⁰⁾。その後、ヒト線維芽細胞増殖因子(bFGF)等も組み込まれている。また、フィブロインH鎖にネコインターフェロンを組み込んだものでも、大量のタンパク質を生産できることがわかり、プロテアーゼの切断部位を利用することにより、活性の高いネコインターフェロンを調製できることが示された。このように、組換えタンパク質を不溶性のフィブロイン層に封じ込めることも可能であり、チオシアン酸リチウムや臭化リチウム等を用いたフィブロイン溶解処理でも立体構造に変化が生じにくいタンパク質であれば生産可能である。また、遺伝子組換えシルクではないが、米国のKaplanらは、フィブロインを溶解して作製したフィルムにワクチンや抗生物質を封じ込めることによって熱安定性を付与し、冷蔵を要しない保存や輸送が可能であることを示しており、今後のシルクの新たな利用可能性を示唆している。

その他、(独)農業生物資源研究所の佐藤・小島らは、一本鎖抗体をフィブロインL鎖に組み込んだ「アフィニティーシルク」を開発し、抗原結合活性を持つシルクパウダーやフィルムの作製に成功しており、低コストの試薬や検査キット等への適用が期待されている¹¹⁾。

V. 高機能絹繊維の大量生産

蛍光シルクや超極細シルク等の高機能絹繊維は、繊維業界、アパレル業界、ファッション業界等において高付加価値シルク製品の素材としてニッチ市場ながらも有望視されている。前述のように、商品に近い形での試作にいくつか成功しているが、今後製品として販売するには、蛍光シルクの供給量不足、飼育や繰糸等にかかるコストが高いこと等の問題がある。試作においてすら通常は数十kgの生糸が必要であり、それには数十万頭の飼育が必要となる。しかしながら、大量の遺伝子組換えカイコを飼育可能な場所は限られており、農家等でのカルタヘナ法に従った組換えカイコの大量飼育システムの早期確立が緊急の課題である。現在、繭生産日本一を誇る群馬県との間で遺伝子組換えカイコの大量飼育体制の構築を進めている(詳しくは、

本特集の桑原氏の記事を参照)。

遺伝子組換えカイコの飼育は、遺伝子組換え生物が逃げないように拡散防止措置をとった上で飼育する「第二種使用」と、拡散防止措置をとらずに飼育する「第一種使用」がある。拡散防止措置をとる第二種使用においては、環境・生物多様性への影響はないと言える。医薬品・検査薬の原料生産のためには、全齢人工飼料育による第二種使用で対応可能と考えられるが、組換えシルクの生産については大量の高品質な繭が必要となるため、値段が安くて繭が高品質になるように桑の葉を用いて、農家の蚕室等において、手間とコストがかかる拡散防止措置を必要としない第一種使用で飼育できることが望ましい。

第一種使用については、申請に際して生物多様性影響評価書を提出して、主務大臣の認可が得られれば、飼育可能となる。我々は2013年に、動物では国内で初となる、遺伝子組換えカイコの第一種使用規定の承認申請を行った。2014年5月に農林水産大臣の承認が得られ、(独)農業生物資源研究所内の隔離飼育施設において、組換えシルク系統の試験飼育を行い、生物多様性影響評価が行われる予定である。今後、農家等による第一種使用での大量生産が可能となり、低コスト化とともに製品販売が実現することが大いに期待される。

VI. おわりに

組換えシルクの実用化、特にアパレル分野の産業化に際しては、需要やコスト等の問題から非常に厳しい状況である。カイコの飼育から最終製品に至るまでの過程で、蚕種業者、農家・農協、製糸会社、撚糸会社、織物業者、染色業者、アパレル業者等々多くの業者が関与するため、実用化に際しては、生産拠点の確保と同時に、川上の生産から川下の流通まで一貫したシステムを構築する必要があり、開発・知財戦略も必要である。まずはニッチ産業としてでも、従来よりも高価格な繭と生糸の生産と流通を実現し、川上から川下まで補助金なしで回るシステムを構築することが重要であり、加えて、再生医療、電子工学、芸能・芸術等の新分野への利用の開拓も重要である。米国を中心として、

シルクの再生医療への利用研究も進んでおり、組織・神経再生への利用は特に今後の発展が期待される分野である。

本特集で紹介されているように、遺伝子組換えカイコによる医薬品・検査薬・化粧品原料生産も実用化しつつあり、遺伝子組換えカイコによる高機能絹繊維に関しても早期の実用化を実現し、カイコを用いた新産業の両輪としたい。富岡製糸場の世界文化遺産の決定を契機として、カイコ新産業(新蚕業)創出にも弾みをつけたいものである。

文献

- 1) Tamura T, et al.: Germline transformation of the silkworm *Bombyx mori* L. using a piggyBac transposon-derived vector. *Nature Biotechnology* 18(1): 81-4, 2000.
- 2) 瀬筒秀樹: 遺伝子組換えカイコについて. *日本絹の里紀要*, 15: 56-63, 2013.
- 3) Kobayashi I, et al.: Development of a new piggyBac vector for generating transgenic silkworms using the kynurenine 3-mono oxygenase gene. *Journal of Insect Biotechnology and Sericology*, 76(3): 145-148, 2007.
- 4) Osanai-Futahashi M, et al.: A visible dominant marker for insect transgenesis. *Nature Communications*, 3: 1295, 2012.
- 5) Daimon T, et al.: Recent progress in genome engineering techniques in the silkworm, *Bombyx mori*. *Development Growth and Differentiation*, 56(1): 14-25, 2014.
- 6) Banno Y, et al.: Development of a method for long-term preservation of *Bombyx mori* silkworm strains using frozen ovaries. *Cryobiology*, 66(3): 283-7, 2013.
- 7) 田村俊樹ら: 遺伝子組換えカイコによる蛍光色を持つ高機能絹糸の開発. *農林水産技術研究ジャーナル*, 32(3): 7-10, 2009.
- 8) Iizuka T, et al.: Colored fluorescent silk made by transgenic silkworms. *Advanced Functional Materials*, 23(42): 5232-5239, 2013.
- 9) 小島 桂ら: オニグモ縦糸タンパク質を導入した遺伝子組換えカイコ絹糸の高次構造解析. *高分子論文集*, 64(11): 817-819, 2007.
- 10) Tomita M: Transgenic silkworms that weave recombinant proteins into silk cocoons. *Biotechnol Lett*, Apr; 33(4): 645-54, 2011.
- 11) Sato M et al.: Production of scFv-conjugated affinity silk film and its application to a novel enzyme-linked immunosorbent assay. *Sci Rep*, 12;4: 4080, 2014.